3M

Petrifilm™

6402/6412

- (GB) **Rapid Coliform Count Plate**
- (FR) **Test pour numération rapide des coliformes**
- (DE) **Test zum Schnellnachweis von Coliformen**
- (IT) **Piastra per il conteggio rapido dei coliformi**
- (ES) **Placa para el Recuento Rápido de Bacilos Coliformes**
- (NL) **Rapid Coliform Count plaat**
- (SE) **Odlingsplatta för snabb räkning av koliforma bakterier**
- (FI) **Rapid Coliform Count Plate**
- (PT) **Placa para contagem rápida de coliformes**
- (GR) **Πλακίδια κολοβακτηριδίων ταχείας καταμέτρησης**
- (JP) 大腸菌群数迅速測定用プレート

3M™ ペトリフィルム™ 大腸菌群数迅速測定用プレート

6402/6412

はじめに

3M™ ペトリフィルム™ 大腸菌群数迅速測定 (RCC)用プレートは、VRB(Violet Red Bile)培地、水可溶性ゲル、pH指示薬、およびＴＴＣ指示薬が含まれています。 ペトリフィルム RCC プレートは、食品中および乳製品の大腸菌群数測定用に使用するものです。 ペトリフィルム RCC プレートは、滅菌はされていませんが、汚染除去処理済みです。 3Mの微生物関連製品は、ISO 9001に適合されていることが証明されています。

AOAC InternationalとFDA Bacteriological Analytical Manual (BAM)では大腸菌群をグラム陰性菌で乳糖を分解し、ガスを発生するものと定義しています。 ペトリフィルムRCCプレート上に生育し、酸を産出するコロニーはpH指示薬によりプレートの色がオレンジ色から黄色へと変化します。この変化により大腸菌群の存在が測定されます。 その後、コロニーから産生するガスにより大腸菌群を確認します。

ISOでは大腸菌群を、選択培地上に生育可能な菌と定義しています。 ISO 4832では、ラクトース添加VRB培地(VRBL)を用いて、コロニーの大きさと酸の発生とで定義し、大腸菌群数を測定します。 この場合には、ペトリフィルムRCCプレートは、プレート上の色の変化による酸の産生、ガス産生、非ガス産生のコロニーを確認します。 ISO 4831では、MPN法を用いて選択培地でガスを産生する菌として定義しています。 この場合には、ペトリフィルムRCCプレートは、ガスを伴う赤いコロニーを測定します。 AFNORでは、ペトリフィルムRCCプレートをISO 4831とISO 4832と比較して測定しています。

注意

3M ではペトリフィルムRCCプレートが食品および清涼飲料以外の業種において使用できることを確認しておりません。例えば、3Mは、ペトリフィルムRCCプレートを水、医薬品または化粧品に使用できることの確認をしておりません。政府の規制によって認められた水の試験に対して、ペトリフィルムRCCプレート法が使えるかどうかについては、お客様ご自身が決定するものであり、責任となります。

ペトリフィルムRCCプレートは、あらゆる食品検体に対して、また大腸菌群、その他の菌株についての試験は行っておりません。

ペトリフィルムRCCプレートは、個々の大腸菌群株を確認するものではありません。

ペトリフィルムRCCプレートを人、動物の診断用に使用しないでください。

製品の性能についての資料については、3M販売担当者までお問い合わせ下さい。

お客様による判断：

他の培地と同様に、同一検体で全て同じ再現性を示すものではありません。 加えて、外的要因（例えばサンプリング方法、検査手順、準備時間、操作など）によっても影響されます。 食品試料そのものが結果に影響を及ぼす場合があります。 例えば、高糖度の食品は、非大腸菌腸内細菌科によるガス産生の可能性を促進する場合があります。

食品中の検査を行なうための試験方法の選択はお客様の判断によるものです。また、試験方法あるいはその結果がお客様のご要求を満たしているかどうかもお客様の判断によります。

また、その試験方法あるいは結果が、お客様あるいは供給業者の要求を満たしているかについても、お客様の判断になります。

他の培地と同様に、ペトリフィルムRCCプレートの結果は、食品、飲料または加工食品の品質を保証するものではありません。

お客様は、検査実施担当者に適切な検査技術を身につけるように指導してください。 例えば、ＧＬＰ (U.S. FDA, Title 21, Part 58 of the Code of Federal Regulations) あるいは ISO17025があります。

保証制限および対応制限

法において禁止されていない限り、３Ｍは目的以外の使用に対しては表記· 非表記を問わず、質· 特性を含む製品についてのあらゆる保証を負いかねます。 3Mペトリフィルム プレートに欠陥があった場合、3Mまたは販売店でにおいて交換あるいは返品の処理をいたします。 対応はこれのみとさせていただきます。 商品に欠陥があった日から60日以内に、3Mまたは販売店まで現品を返送してください。 返送される商品が発生した場合には、3Mまでご連絡ください。

３Ｍの保証責任範囲

法律によって禁止されない限り、３Ｍは直接的· 間接的、特殊、必然· 偶然を問わず、利益損出を含む製品についてのあらゆる保証を負いかねます。 法によって禁止される場合を除き、あらゆる法的論理に対しても、３Ｍの保証責任範囲は欠陥品と認められたプレートの購入金額を超えることはありません。 それ以上の保証を望まれるお客様は、購入されたそれぞれの国で適切な助言を求めるようにお願いいたします。

保存と廃棄

未開封のペトリフィルム プレートは、 8ºC(46ºF) 以下で冷蔵または冷凍して保管します。 ご使用の際には、開封前に製品を室温に戻してください。 使用していないプレートは包装パウチに戻してください。 開口部を折ってテープで封をしてください。 湿気を避けるために開封したパウチは再冷蔵しないでください。 封をした包装パウチは、乾燥した冷所で保管し、一ヶ月以上は保管しないでください。 一度開封した包装パウチは、エアコンが完備されている場合を除き、試験室の温度が 25ºC(77ºF)以上かつ相対湿度50%以上の場合には、冷凍庫で保管することをお勧めします。

一度開封したプレートを冷凍保存する場合には、密封できる容器にペトリフィルムプレートを入れてください。 冷凍されたペトリフィルムプレートを使用する場合には、容器を開け、必要な枚数のプレートを取り出し、残ったプレートを密封可能な容器に入れ、すぐに冷凍してください。 使用期限を過ぎたプレートは使用しないでください。 一度開封したパウチの保存は、自動霜取り装置が無い冷凍庫で保存してください。プレートに対して悪影響を与えることがあります。

変色しているプレートは使用しないでください。 ペトリフィルムプレートの使用期限とロット番号は、各パウチに印字されています。 ロット番号は、各プレートにも表示されています。

ご使用後、ペトリフィルムRCCプレートは、バイオハザードの可能性となる菌を含んでいるかもしれません。 お客様の廃棄基準に従って廃棄してください。

使用手順

検体の準備

1. 適切な滅菌希釈液をご使用ください。

   バターフィールドリン酸緩衝液[1,3]、0.1% ペプトン水[3]、ペプトン塩希釈液[2,3]、食塩水 (0.85-0.90%)、亜硫酸水素塩フリーのリージンブロスまたは蒸留水。

   クエン酸塩、重亜硫酸塩、またはチオ硫酸塩を含む緩衝液は、菌の生育を阻害する場合がありますので使用しないでください。 クエン酸緩衝剤が、標準検査工程中に指定されている場合には、 40～45°C (104-113ºF)に温めて使用してください。

2. 検体を攪拌またはホモジナイズしてください。

3. 菌の生育を確実にするために、検体懸濁液のｐＨを6.5 ～ 7.5に調整してください。 酸性の検体については、1*N* NaOH でpHを調整します。 アルカリ性の検体に対しては、1*N* HCL でpHを調整します。

プレートへの接種

1. ペトリフィルムRCCプレートを平らな台の上に置きます（図a参照）。
2. 上部フィルムを持ち上げ、検体懸濁液１ｍＬを下部フィルムの中央に滴下します（図b参照）。
3. 気泡が入らないように、上端フィルムゆっくりと戻します （図c参照）。
4. プラスチックスプレッダーを、平らな面を下に向けて、プレートの中央に置きます（図ｄ参照）。 スプレッダーの中心を軽く押さえ、検体を均一に広げます。 検液を、ゲルが固化する前に、ペトリフィルムプレートの生育範囲全体に広げます。 フィルム上でスプレッダーを滑らさないでください。
5. スプレッダーを外し、ゲルが固まるまで最低1分間放置します。

培養

1. 上部フィルム側を上にして、20枚以内に重ねて培養します。 }参考とする方法により、培養時間および培養温度が異なります。以下に妥当性確認された方法を示します。 **加工豚肉については、AFNOR培養温度を参照してください）
2. 24 ± 2時間の培養で、大腸菌群数の生育を確認することができます。確認方法は下記の手順に従ってください（以下に説明*）。 大腸菌群数の生育は温度に依存しますので培養時間の延長を避けるために、培養器から出している時間をできるだけ短くする必要があります。

解釈

解釈は、「 有効な方法の具体的な説明」を参照してください

1. バックライト式のコロニーカウンターは、早い段階で確認するのに適しています。 大腸菌群は、6時間培養後に、コロニーの形成を示す黄色のゾーンとして現れ始めます（図ｅ参照）。さらに黄変部分や、気泡を伴う赤いコロニーを検出するために、培養を続けてください。 フォームダム上のコロニーは測定しないでください。 作業中に混入してしまった気泡も数えないでください。酸を多く産出する大腸菌群もあります。 １プレートあたり20コロニー以上存在すると黄変した部分が溶解することがあります。 培地の面積は約20 cm²です。 もし黄変部分が50ヶ所以上存在する場合には、1 cm²の平均を計算し、概算数を求めることもできます。 平均数を20倍することによってプレート当りの総数を確定します。
2. 必要に応じて、釣菌してコロニーを同定することも可能です。 上端フィルムを持ち上げてコロニーをゲルから釣菌します（図h参照）。 標準的な方法

3. 培養器から取り出して1時間以内にプレートの測定ができなかった場合は、後で測定するために密封可能な容器に入れて蓋をし、-15°C (5°F) 以下で冷凍保存してください。保存期間は1週間以内です。

詳細は、適切な 3M™ ペトリフィルム™プレートの「解釈書」を参照してください。 具体的な用途または手順についてご質問がある場合は、 3 M営業担当者またはウェブサイトをご覧ください。 www.3m.com/microbiology.

有効な方法の具体的な説明

AOAC® Official Methods℠ 2000.15: Dry Rehydratable Film Method for the Rapid Enumeration of coliform in Foods.
ペトリフィルムRCCプレートを24時間 ± 2時間、35ºC ± 1ºCで培養します。

AFNOR によって妥当性確認にされた方法で、ISO 16140[7]および、ISO 4832[5]と比較されています (3M-01/5-03/97 A)

適応範囲: すべての食品

上記の使用方法に従って行う場合には下記の詳細方法に従ってください。

検体の準備

ISO のリストに掲載されている希釈液のみを使用します。 [2, 3]

培養

加工された豚肉製品および水産食品については、ペトリフィルムRCCプレートを 30ºC ± 1ºCで14時間 ± 30 分培養します。

他のすべての食品については、ペトリフィルムRCCプレートを 35ºC ± 1ºCで14時間 ± 30 分培養します。

解説

ISO 7218[6] に従って、希釈毎の菌数を計算します。

推定菌数は、ISO 16140 の妥当性範囲外です。

ISO16140に従って、ISO 4832[5]と比較し、AFNOR によって妥当性確認された方法 (3M-01/5-03/97 B)

適応範囲: すべての食品

上記の使用方法に従って行う場合には下記の詳細方法に従ってください。

検体の準備

ISO のリストに掲載されている希釈液のみを使用します。 [2, 3]

培養

加工豚肉製品および水産食品は、ペトリフィルムRCCプレートを 30ºC ± 1ºCで24時間 ± 2時間培養します。

その他のすべての食品は、ペトリフィルムRCCプレートを 35ºC ± 1ºCで24時間 ± 2時間培養します。

解説

ISO 7218 に従って、希釈毎の菌数を計算します。

推定菌数は、ISO 16140 の妥当性範囲外です。

ISO16140に従って、ISO 4832[5]と比較し、AFNOR によって妥当性確認された方法 (3M-01/5-03/97 C)

適応範囲: 加工豚肉製品を除くすべての食品。

上記の使用方法に従って行う場合には下記の詳細方法に従ってください。

検体の準備

ISO のリストに掲載されている希釈液のみを使用します。 [2, 3]

培養

水産食品については、ペトリフィルムRCCプレートを 30ºC ± 1ºCで24時間 ± 2時間培養します。

その他のすべての食品は、ペトリフィルムRCCプレートを 35ºC ± 1ºCで24時間 ± 2時間培養します。

解説

ISO 7218 に従って、希釈毎の菌数を計算します。

推定菌数は、ISO 16140 の妥当性範囲外です。

参考資料

1. FDA. 1998. Bacteriological Analytical Manual, 8th ed., Revision A, Appendix 3.64.
2. ISO 6887-1: Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions
3. ISO 8261/IDF 122: Milk and milk products - General guidance for the preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination
4. ISO 4831: Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms--- Most probable number technique
5. ISO 4832: Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coliforms--- Colony count technique
6. ISO 7218: Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination
7. ISO 16140: Microbiology of food and animal feeding stuffs - Protocol for the validation of alternative methods

記号の説明

- 注意、「使用方法」を参照してください。

- 箱のLotと砂時計の記号はロット番号と使用期限を示します。 砂時計の後に年/月で、使用期限を示します（年/月： 2010-10）. 砂時計の次の行全体がロット番号 (2010-10 AZ) を示します。

- 指定した温度以下で保存してください。

a.

b.

c.

d.

e.

f.

g.

h.